



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

Raccomandazioni per la stima dell'incertezza di misura nei laboratori medici (ISO 15189 e ISO 20914)

Recommendations for estimating measurement uncertainty in medical laboratories (ISO 15189 and ISO 20914)

Codifica di questo documento:

Flusso Operativo Pre-esame Richiesta di esame A Raccolta del campione B Trasporto del campione C Ricezione e trattamento del campione D Esame Analisi E Revisione e flusso dei risultati F Interpretazione di laboratorio G Post-esame Trasmissione e archiviazione del risultato H Conservazione e smaltimento del campione I	Elementi fondamentali del sistema qualità Documenti e Registri L Organizzazione M Personale N Strumentazione O Acquisti e gestione scorte P Controllo del processo Q Gestione delle informazioni R Gestione degli inconvenienti S Verifiche T Miglioramento del processo U Servizio e Soddisfazione V Impianti e sicurezza Z	#
--	---	---



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

Riferimenti normativi

- UNI EN ISO 15189:2013 Laboratori medici - Requisiti riguardanti la qualità e la competenza. Milano: UNI 2013
- UNI EN ISO 9000:2015 Sistemi di gestione per la qualità - Fondamenti e vocabolario
- UNI CEI 70099:2008 Guida ISO/IEC 99:2007 Vocabolario Internazionale di Metrologia. Concetti fondamentali e generali e termini correlati (VIM)
- ISO 5725-2:2019. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
- ISO 17822:2020. In vitro diagnostic test systems — Nucleic acid amplification-based examination procedures for detection and identification of microbial pathogens — Laboratory quality practice guide.
- ISO/TS 20914:2019. Medical laboratories -- Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 19011:2018. Guidelines for auditing management systems. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2018.
- ISO/TS 16393:2019. Molecular biomarker analysis — Determination of the performance characteristics of qualitative measurement methods and validation of methods
- ISO 20397-2:2021 Biotechnology — Massively parallel sequencing — Part 2: Quality evaluation of sequencing data
- ISO/WD TS 5798. Quality Practice for detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

Indice

Introduzione.....	4
Introduction.....	4
1. Campo di applicazione.....	6
1. Scope.....	6
2. le raccomandazioni SIPMeL.....	6
2. the SIPMeL recommendations.....	6
2.1 Raccomandazione SIPMeL n.1: i fondamenti.....	7
SIPMeL Recommendation No.1: The Basics.....	7
2.1 Raccomandazioni SIPMeL n.2 per il fronte della taratura.....	8
SIPMeL Recommendations No. 2 for the calibration front.....	8
2.3 Raccomandazione SIPMeL n.3 per il fronte della precisione.....	9
SIPMeL Recommendation No. 3 for the precision front.....	9
2.4 Raccomandazione SIPMeL n. 4 per l'espressione dell'incertezza di misura.....	12
SIPMeL Recommendation 4 for the expression of measurement uncertainty.....	12
2.5 Raccomandazioni SIPMeL n.5 per il calcolo dell'incertezza di misura.....	14
SIPMeL Recommendation No. 5 for the calculation of measurement uncertainty.....	14
2.6 Raccomandazioni SIPMeL n.6 per esami con amplificazione di acidi nucleici.....	17
SIPMeL Recommendations no.6 for nucleic acid amplification tests.....	17
3. Conclusioni.....	21
3. Conclusions.....	21



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

Introduzione

La norma ISO 15189 per i laboratori medici è nel pieno del suo processo di revisione.¹

Il gruppo di lavoro, strutturato in gruppi di redazione per singole parti della norma, riceve dal vertice ISO CASCO alcune indicazioni: usare come modello e seguire un procedimento come quello usato per la revisione della ISO/IEC17025:2017, redazione da parte di piccoli gruppi, revisione del testo dell'intero gruppo del progetto, revisione da parte del WG1 di TC ISO 212, inclusione di ISO 22870 (POCT)² nella nuova ISO 15189, riferimenti a ISO 15190 (salute e sicurezza)³, ISO 22367 (gestione del rischio)⁴ e ISO/TS 20658 (processi pre-esame)⁵.

I principi della revisione sono stati ribaditi e precisati nel 2020 dal WG1 di ISO/TC 212, confermando il riferimento normativo ISO / IEC 17025, la direttiva a essere meno prescrittiva, basata sul rischio e collegata a cura del paziente, con inclusione di aspetti rilevanti del POCT, prendendo in considerazione altri documenti ISO, per evitare ripetizioni ridondanti, e per

Introduction

The ISO 15189 standard for medical laboratories is in the middle of its revision process.¹

The working group, structured in drafting groups for individual parts of the standard, receives some guidance from the ISO CASCO top: use as a template and follow a process like the one used for the revision of ISO/IEC17025:2017, drafting by small groups, revision of the text by the whole project group, revision by WG1 of TC ISO 212, inclusion of ISO 22870 (POCT)² in the new ISO 15189, references to ISO 15190 (health and safety)³, ISO 22367 (risk management)⁴ and ISO/TS 20658 (pre-examination processes)⁵.

The principles of the revision were reiterated and clarified in 2020 by WG1 of ISO/TC 212, confirming the normative reference ISO/IEC 17025, the directive to be less prescriptive, risk-based and linked to patient care, with inclusion of relevant aspects of POCT, taking into account other ISO documents, to avoid redundant repetition, and to synchronise relevant

1 Pradella M. Requisiti dei laboratori medici, forensi, antidoping e alimentari: nuove ISO 15189 e ISO 17025. La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2019 Dicembre;15(4):252-62.

2 ISO 22870:2016 Point-of-care testing (POCT) -- Requirements for quality and competence. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

3 ISO/DIS 15190:2019. Medical laboratories -- Requirements for safety. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

4 ISO/DIS 22367:2019. Medical laboratories -- Application of risk management to medical laboratories. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

5 ISO/TS 20658:2017, Medical laboratories — Requirements for collection, transport, receipt, and handling of samples. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura
agosto 2021

sincronizzare le clausole pertinenti in diversi documenti ISO, tra cui ISO TS 20914 (incertezza)⁶ e il pacchetto di standard diagnostici molecolari sviluppato da ISO TC 212 WG 4 (ISO 20166, ISO 20184, ISO 20186ISO 21474, ISO 23118 e altri)⁷.

Si presenta così la necessità di esaminare ISO 20914 per l'incertezza di misura nei laboratori medici e fissare alcune indicazioni per la sua applicazione, con particolare attenzione a settori "nicchia" che oggettivamente presentano difficoltà, nonché agli esami, presenti in tutti i settori del laboratorio, con risultati di tipo non quantitativo, ovvero qualitativo, cioè costituiti da sostantivi o aggettivi, sia quelli con una relazione di rango o intensità (ordinali) che quelli aventi solo la relazione di identità o diversità (nominali).

Gli strumenti di calcolo dei laboratori dovrebbero essere in grado di gestire i nuovi concetti di incertezza, così come già fanno con il controllo interno di qualità.⁸ SIPMeL ha già prodotto raccomandazioni per i sistemi informatici⁹ e per il controllo di qualità¹⁰, indirizzate sia ai laboratori che ai fabbricanti di sistemi, dispositivi e reagenti. Anche in questo caso, nel quadro della necessaria stretta collaborazione tra laboratori e fabbricanti, SIPMeL raccoglie le principali indicazioni per l'applicazione delle norme ISO, della principale letteratura e delle linee guida CLSI per la stima

clauses in several ISO documents, including ISO TS 20914 (uncertainty)⁶ and the molecular diagnostic standards package developed by ISO TC 212 WG 4 (ISO 20166, ISO 20184, ISO 20186ISO 21474, ISO 23118 and others)⁷.

Thus, the need arises to review ISO 20914 for measurement uncertainty in medical laboratories and to set some guidelines for its application, with particular attention to "niche" areas that objectively present difficulties, as well as to examinations, present in all laboratory areas, with results that are not quantitative, i.e. qualitative, consisting of nouns or adjectives, both those with a rank or intensity relationship (ordinal) and those having only the identity or diversity relationship (nominal).

The computational tools of laboratories should be able to handle the new concepts of uncertainty, as they already do with internal quality control.⁸ SIPMeL has already produced recommendations for information systems⁹ and for quality control¹⁰, addressed both to laboratories and to manufacturers of systems, devices and reagents. Also in this case, in the framework of the necessary close collaboration between laboratories and manufacturers, SIPMeL collects the main indications for the application of ISO standards, of the main literature and of the CLSI guidelines for the estimation of measurement uncertainty and its use in the validation and

6 ISO/TS 20914:2019. Medical laboratories -- Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

7 STANDARDS BY ISO/TC 212 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. <https://www.iso.org/committee/54916/x/catalogue/>

8 Pradella M. Controllo di qualità interno: statistica avversaria della metrologia? 2021 Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 17(2):130-2

9 Pradella M. Infrastruttura informatica per i Laboratori medici (LIS) del 2020: le raccomandazioni SIPMeL. Riv Ital Med Lab (2017) 13:56-62

10 Pradella M. Produttore di diagnostici e laboratorio medico alleati per il controllo di qualità dei risultati: ritardi e novità. La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2020 Marzo;16(1):73-7



dell'incertezza di misura ed il suo utilizzo nella validazione e nella verifica delle procedure di esame.

verification of examination procedures.

1. Campo di applicazione

Queste Raccomandazioni non comprendono utilità ed utilizzo dell'incertezza di misura nei laboratori medici. Non prendono in esame criticamente le basi statistiche delle stime di incertezza. Non prendono in esame la discussione tra studiosi in merito alle diversità tra limiti accettabili per incertezza di misura ed errore (scostamento) totale accettabile.

Queste Raccomandazioni concernono la realizzazione pratica delle stime di incertezza di misura nei laboratori medici, nonché l'utilizzo della sua componente precisione negli audit di parte terza e per l'accREDITAMENTO

2. le raccomandazioni SIPMeL

Le raccomandazioni SIPMeL in questo documento sono divise in 6 parti.

n.1: i fondamenti

n.2: per il fronte della taratura.

n.3: per il fronte della precisione

n.4: per l'espressione dell'incertezza di misura 16

n.5: per il calcolo dell'incertezza di misura 20

n.6: per esami con amplificazione di acidi nucleici

1. Scope

These Recommendations do not include the utility and use of measurement uncertainty in medical laboratories. They do not critically examine the statistical basis of uncertainty estimates. They do not examine the discussion among scholars about the differences between acceptable limits for measurement uncertainty and total acceptable error (variance).

These Recommendations concern the practical implementation of measurement uncertainty estimates in medical laboratories, as well as the use of its precision component in third-party audits and for accreditation.

2. the SIPMeL recommendations

The SIPMeL recommendations in this document are divided into 6 parts.

no.1: the basics

no.2: for the calibration front.

no.3: for the precision front

no.4: for the expression of measurement uncertainty

no.5: for the calculation of measurement uncertainty

no.6: for tests with nucleic acid amplification



2.1 Raccomandazione SIPMeL n.1: i fondamentali

1. fondamentali: per la conformità con i requisiti di ISO 15189, laboratori medici e fabbricanti di dispositivi diagnostici in vitro collaborano alla realizzazione dei principi fondamentali di seguito elencati.

1a. viene stimata l'incertezza di misura per i valori quantitativi, nei modi descritti da ISO/TS 20914; viene periodicamente riesaminata e viene mantenuta a livelli accettabili in relazione agli obiettivi analitici.^A

1b. la stima dell'incertezza di misura è disponibile per gli utilizzatori del laboratorio, su richiesta, affiancata alle informazioni sulle altre fonti di variabilità, a partire da quella biologica.

1c. l'incertezza di misura va stimata anche per le fasi quantitative più rilevanti dei processi di esame che forniscono risultati finali qualitativi nominali.

1d. ripetibilità e riproducibilità dei risultati qualitativi nominali sono inoltre stimate con tecniche appropriate, descritte in linee guida riconosciute.^{11, 12}

SIPMeL Recommendation No.1: The Basics

1. Basics: For compliance with the requirements of ISO 15189, medical laboratories and manufacturers of in vitro diagnostic devices work together to implement the following basic principles.

1a. Measurement uncertainty is estimated for quantitative values in the manner described by ISO/TS 20914; it is periodically reviewed and maintained at acceptable levels in relation to analytical objectives.^A

1b. The estimated measurement uncertainty is available to laboratory users, upon request, together with information on other sources of variability, starting with biological variability.

1c. measurement uncertainty should also be estimated for the most relevant quantitative steps of the examination processes that provide nominal qualitative end results.

1d. repeatability and reproducibility of nominal qualitative results are also estimated by appropriate techniques, described in recognised guidelines.^{11,12}

11 Pereira P. Quality Control of Qualitative Tests for Medical Laboratories. 2020 Paulo Pereira. - Lisboa ISBN: 978-989-20-9857-9

12 CLSI EP12-A2 . User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline—Second Edition.. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania USA, 2007



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura
agosto 2021

2.1 Raccomandazioni SIPMeL n.2 per il fronte della taratura.

2. in conformità alle indicazioni di ISO 20914, per la stima della incertezza di misura nei laboratori medici si considera la taratura delle procedure di esame con le modalità seguenti .

2a. il processo della taratura si svolge come descritto da ISO 17511^{13,14}

2b. di regola, processo di fabbricazione del materiale di taratura include già la correzione di qualsiasi scarto sistematico clinicamente significativo, perciò la stima dello scarto e della sua incertezza da parte del laboratorio è richiesta raramente

2c. i produttori di calibratori forniscono le loro stime di dell'incertezza agli utenti finali su loro richiesta

2d. nella verifica delle caratteristiche prestazionali, il laboratorio si accerta che l'ampiezza dello scarto sistematico non superi le specifiche accettabili per uso medico.

2e. la sola partecipazione a programmi di comparazione tra laboratori (VEQ) non è adeguata per la verifica dello scarto sistematico. In caso di dubbi, il laboratorio pianifica ed esegue la stima dello scarto con campioni umani.

SIPMeL Recommendations No. 2 for the calibration front.

2. in accordance with ISO 20914, the calibration of examination procedures is considered for the estimation of measurement uncertainty in medical laboratories in the following way

2a. the calibration process takes place as described in ISO 17511^{13,14}

2b. as a rule, the manufacturing process of calibration material already includes the correction of any clinically significant systematic bias, so that estimation of the bias and its uncertainty by the laboratory is rarely required.

2c. calibrator manufacturers provide their uncertainty estimates to end-users at their request.

2d. when verifying performance characteristics, the laboratory ensures that the magnitude of systematic deviation does not exceed acceptable specifications for medical use.

2e. participation in inter-laboratory comparison (VEQ) programmes alone is not adequate for verification of systematic deviation. If in doubt, the laboratory plans and performs the estimate of the deviation with human samples.

13 ISO/FDIS 17511:2019. In vitro diagnostic medical devices—requirements for establishing metrological traceability of values assigned to calibrators, trueness control materials and human samples. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2019.

14 Pradella M. Taratura, armonizzazione e standardizzazione nelle nuove ISO 17511 e ISO 21151. La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2020 Giugno;16(2):129-31



2f. uno scarto sistematico non accettabile non risolto dal fabbricante ma corretto dal laboratorio richiede la stima dell'incertezza del fattore di correzione.

2f. unacceptable systematic deviation not resolved by the manufacturer but corrected by the laboratory requires estimation of the uncertainty of the correction factor.

2.3 Raccomandazione SIPMeL n.3 per il fronte della precisione.

3. in conformità alle indicazioni di ISO 20914, sul fronte della precisione il percorso per la stima dell'incertezza di misura nel laboratorio medico si sviluppa nelle fasi seguenti:

3a. definizione del misurando, composta da sistema in cui è contenuto il costituente/analita (sangue venoso, urine, eritrociti, ecetera), identità del costituente, quantità misurata;

3b. stima della precisione della misura, derivata dai dati del controllo di qualità interno in un periodo di tempo lungo¹⁵, in condizioni stabili del metodo e per valori vicini ai livelli decisionali^{NOTE B}; la varianza del materiale di controllo viene verificata mediante confronto (test F) con quella ottenuta con campioni umani;¹⁶

3c. la stima della precisione della misura per risultati di tipo qualitativo nominale è data dalla frequenza dei risultati positivi per un materiale di controllo di qualità interno in un periodo di tempo lungo, al livello C₉₅ o

SIPMeL Recommendation No. 3 for the precision front.

3. in accordance with the indications of ISO 20914, on the precision front the path for the estimation of measurement uncertainty in the medical laboratory is developed in the following phases:

3a. definition of the measurand, consisting of the system in which the constituent/analyte is contained (venous blood, urine, erythrocytes, etc.), identity of the constituent, quantity measured;

3b. estimation of the precision of the measurement, derived from internal quality control data over a long period of time¹⁵, under stable method conditions and for values close to the decision levels^{NOTE B}; the variance of the control material is checked by comparison (F-test) with that obtained with human samples;¹⁶

3c. the estimated accuracy of measurement for nominal quality results is given by the frequency of positive results for an internal quality control material over a long period of time at the C₉₅ level or at least C₅₀+20%;¹⁷

¹⁵ CLSI. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions. 4th ed. CLSI guideline C24 Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2016.

¹⁶ ISO/TS 20914:2019 punto 6.2



almeno $C_{50}+20\%$; ¹⁷

3d. le differenze tra trattamento dei campioni umani (esempio emolisi) e quello dei materiali di controllo (ricostituzione di un liofilizzato) vengono adeguatamente considerate nella sperimentazione;

3e. per evitare l'effetto di differenze tra lotti di reagenti (dettagli in CLSI EP26¹⁸), la precisione viene stimata da misure con un singolo lotto oppure con la tecnica della media comune (*pooled*) descritta in CLSI C24;¹⁹

3f. il laboratorio che utilizza strumenti diversi per lo stesso esame ottiene una stima di precisione dalla media comune come descritto da CLSI C24;

3g. l'incertezza di misura per esami che producono risultati finali di tipo qualitativo viene stimata da segnali o indici quantitativi²⁰, ma solo intorno al livello soglia;²¹

3h. i risultati delle misure di conteggio (come le cellule nel sangue) sono quantitativi; i conteggi manuali mediante microscopia sono assimilati ai c.d. "eventi rari" aventi distribuzione secondo la variabile di Poisson;²²

3d. differences between the treatment of human samples (e.g. haemolysis) and that of control materials (reconstitution of a lyophilisate) are adequately accounted for in the test;

3e. to avoid the effect of differences between batches of reagents (details in CLSI EP26¹⁸), precision is estimated from single-batch measurements or the pooled technique described in CLSI C24;¹⁹

3f. the laboratory using different instruments for the same examination obtains an estimate of precision from the pooled average as described by CLSI C24;

3g. measurement uncertainty for tests that produce qualitative end results is estimated by quantitative signals or indices²⁰, but only around the threshold level;²¹

3h. the results of counting measurements (such as cells in blood) are quantitative; manual counts by microscopy are assimilated to so-called "rare events" with distribution according to the Poisson variable;²²

3i. due to the limitations of uncertainty estimation, it is not used to

¹⁷ ISO/TS 16393:2019. Molecular biomarker analysis — Determination of the performance characteristics of qualitative measurement methods and validation of methods

¹⁸ CLSI. User Evaluation of Between-Reagent Lot Variation; Approved Guideline. CLSI document EP26-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013

¹⁹ ISO/TS 20914:2019 punto 6.3

²⁰ Guidance UK Standards for Microbiology Investigations Q 2: quality assurance in the diagnostic infection sciences laboratory. From: Public Health England Published 11 November 2013 Last updated 26 July 2021

²¹ ISO/TS 20914:2019 punto 6.9

²² ISO/TS 20914:2019 punto 6.10



3i. per i limiti della stima dell'incertezza, non viene usata per comparare metodi diversi per lo stesso esame;²³

3l. la componente di incertezza in condizioni di ripetibilità (voci 3.23 e 3.33: stesso operatore, stesso metodo, breve lasso di tempo) viene utilizzata per verificare le caratteristiche di una procedura di misurazione prima dell'introduzione in servizio, poiché indica la migliore precisione ottenibile nelle mani del laboratorio, o come prima valutazione di un sospetto scostamento sistematico, o come veloce prova di stabilità del metodo in occasione di un audit di parte terza ("prova in doppio")^{24, 25}, NOTA C; l'interpretazione della ripetibilità viene ottenuta con la statistica F di Fisher nel caso di due serie di misure, con la statistica t di Student nel caso della semplice prova in doppio.^{26, 27}, NOTA D.

compare different methods for the same examination;²³

3l. the uncertainty component under repeatability conditions (items 3.23 and 3. 33: same operator, same method, short period of time) is used to verify the characteristics of a measurement procedure prior to introduction into service, as it indicates the best achievable accuracy in the hands of the laboratory, or as a first assessment of a suspected systematic deviation, or as a quick test of method stability during a third party audit ("double testing")^{24,25}, iNOTE C; the interpretation of repeatability is obtained with Fisher's F-statistic in the case of two measurement series, with Student's t-statistic in the case of simple double testing.^{26,27}, iNOTE D

²³ ISO/TS 20914:2019 punto 6.11

²⁴ Accredia. RG-02 rev.07 – Regolamento per l'accreditamento dei Laboratori di prova e dei Laboratori Medici. Roma 2018.

²⁵ Accredia. PG-09-DL rev.07 – Procedura generale per la valutazione dei Laboratori di prova, Laboratori medici e PTP. Roma 2018.

²⁶ Accredia. DT-0002/6 rev.00 – Guida al calcolo della ripetibilità di un metodo di prova ed alla sua verifica nel tempo. Roma 2007.

²⁷ Manuale UNICHIM 179/1:2011 - Linee guida per la validazione di metodi analitici nei laboratori chimici - Valutazione della precisione (ripetibilità stretta) di un metodo analitico eseguito in un unico laboratorio da un solo operatore su di un unico strumento in un breve intervallo di tempo. Milano 2011.



2.4 Raccomandazione SIPMeL n. 4 per l'espressione dell'incertezza di misura

4. in conformità alle indicazioni di ISO 20914, l'espressione della stima di incertezza di misura segue le seguenti regole:

4a. essendo la stima l'incertezza di misura standard, incertezza estesa e incertezza relativa una serie di calcoli sequenziali, l'arrotondamento viene eseguito solo sulle stime calcolate finali; mai sui valori calcolati intermedi;

4b. nel calcolo di una media, si usa solo una cifra decimale aggiuntiva; per il calcolo dello scarto tipo si usano il numero di cifre decimali nei valori riportati più due. Per il coefficiente di variazione %, una cifra decimale (per esempio, 3,1 %);²⁸

4c. l'arrotondamento delle cifre può essere ottenuto con diversi metodi: pari e dispari (inferiore per cifre pari, superiore per cifre dispari), convenzionale (fogli elettronici, inferiore da 1 a 4, superiore da 5 a 9), superiore (a prescindere dalla cifra)²⁹; nei casi critici, viene aggiunta una frase che informi del tipo di arrotondamento applicato³⁰;

4d. l'esperimento per incertezza di misura dei risultati qualitativi

SIPMeL Recommendation 4 for the expression of measurement uncertainty

4. in accordance with ISO 20914, the expression of the measurement uncertainty estimate shall follow the following rules

4a. since the estimation of standard measurement uncertainty, expanded uncertainty and relative uncertainty is a series of sequential calculations, rounding shall be performed only on the final calculated estimates; never on intermediate calculated values;

4b. when calculating an average, only one additional decimal place is used; for the calculation of the standard deviation, the number of decimal places in the reported values plus two are used. For the coefficient of variation %, one decimal place (e.g. 3,1 %),²⁸

4c. rounding of digits can be achieved by different methods: even and odd (lower for even digits, higher for odd digits), conventional (spreadsheets, lower from 1 to 4, higher from 5 to 9), higher (regardless of the digit)²⁹; in critical cases, a sentence is added informing about the type of rounding applied³⁰;

4d. the experiment for measurement uncertainty of nominal qualitative

28 Altman D. G., Gore S. M., Gardner M. J., Pocock S. J., Statistical guidelines for contributors to medical journals," Br Med J (Clin Res Ed), vol. 286, no. 6376, pp. 1489-93, May 7 1983

29 Harris G. L., Selected Laboratory and Measurement Practices and Procedures to Support Basic Mass Calibrations," - GLP 9, NISTIR 6969(2018 Ed). National Institute of Standards and Technology, 2018. Available: <https://doi.org/10.6028/NIST.IR.6969-2018>

30 United Nations Statistics Division, Policy on Rounding of Numbers. (Nov 5, 2018). Available: <https://unstats.un.org/unsd/dnss/docViewer.aspx?docID=134#start>

nominali è documentato sia in forma tabellare o come grafico, come stima della probabilità di un risultato positivo e l'intervallo di confidenza per ogni livello;^{31, NOTA E},

4d. l'incertezza di misura non viene comunicata con i risultati degli esami, ma messa a disposizione degli utenti del laboratorio su richiesta, oppure comunicata in situazioni mediche dove può diventare importante;³² il simbolo per incertezza di misura standard (scarto tipo o probabilità di positivi) è " u "³³, quello per l'incertezza estesa è " U "³⁴, curando che non venga confuso con il simbolo per il materiale urine;

4e. la componente di incertezza in condizioni di ripetibilità, utilizzata come veloce prova di stabilità del metodo in occasione di un audit di parte terza ("prova in doppio")^{35, 36, NOTA F}; viene valutata confrontando la differenza con il limite di ripetibilità, ottenuto dall'imprecisione in condizioni di ripetibilità moltiplicata per la radice di 2 (numero delle osservazioni) e per il valore della t di Student corrispondente alla statistica applicata^{37, 38}.

results is documented either in tabular form or as a graph, as an estimate of the probability of a positive result and the confidence interval for each level;^{31, NOTE E}

4d. the measurement uncertainty is not communicated with the test results, but made available to laboratory users on request, or communicated in medical situations where it may become important;³² the symbol for standard measurement uncertainty (type deviation or probability of positive) is " u "³³, that for expanded uncertainty is " U "³⁴, taking care that it is not confused with the symbol for urine material;

4e. the uncertainty component under repeatability conditions, which is used as a quick test of method stability during a third party audit ("double testing")^{35,36,NOTE F}; is assessed by comparing the difference with the repeatability limit, obtained from the imprecision under repeatability conditions multiplied by the root of 2 (number of observations) and by the Student's t value corresponding to the applied statistic^{37,38}.

31 ISO/TS 16393:2019. Molecular biomarker analysis — Determination of the performance characteristics of qualitative measurement methods and validation of methods

32 ISO/TS 20914:2019 punto 5.6.

33 ISO/TS 20914:2019 punto 3.37

34 ISO/TS 20914:2019 punto 3.9

35 Accredia. RG-02 rev.07 – Regolamento per l'accREDITamento dei Laboratori di prova e dei Laboratori Medici. Roma 2018.

36 Accredia. PG-09-DL rev.07 – Procedura generale per la valutazione dei Laboratori di prova, Laboratori medici e PTP. Roma 2018.

37 Accredia. DT-0002/6 rev.00 – Guida al calcolo della ripetibilità di un metodo di prova ed alla sua verifica nel tempo. Roma 2007.

38 Manuale UNICHIM 179/1:2011 - Linee guida per la validazione di metodi analitici nei laboratori chimici - Valutazione della precisione (ripetibilità stretta) di un metodo analitico eseguito in un unico laboratorio da un solo operatore su di un unico strumento in un breve intervallo di tempo. Milano 2011.



2.5 Raccomandazioni SIPMeL n.5 per il calcolo dell'incertezza di misura

5. in conformità alle indicazioni di ISO 20914, il calcolo e l'espressione dell'incertezza di misura vengono eseguiti con le seguenti modalità.

5a. La varianza (σ^2) è una misura della dispersione tra i valori numerici in un insieme di dati, che indica quanto ciascuno di essi è lontano dalla media, ed è calcolata prendendo la differenza tra ogni valore e la media dell'insieme di dati, elevando al quadrato ogni differenza (per renderla positiva) e poi dividendo la somma dei quadrati per il numero di valori nell'insieme meno 1 (gradi di libertà). La radice quadrata della varianza è chiamata scarto tipo^{39, 40}, che ha il vantaggio pratico di avere la stessa unità di misura dei dati usati per il suo calcolo. Diversi scarti tipo non possono essere sommati, sottratti, divisi o moltiplicati insieme, quindi la varianza, σ^2 è necessaria quando si combinano diverse componenti dell'incertezza di misura;

5b. se il laboratorio ha la prova che il misurando nei campioni umani e il misurando nel materiale di controllo si comportano in modo molto simile, lo scarto tipo calcolato per i valori del controllo di qualità viene presa come la incertezza (u) dei risultati prodotti per campioni umani;

5c. se l'imprecisione della misura è costantemente proporzionale al

SIPMeL Recommendation No. 5 for the calculation of measurement uncertainty

In accordance with ISO 20914, the calculation and expression of the measurement uncertainty shall be performed as follows.

5a. The variance (σ^2) is a measure of the dispersion between numerical values in a data set, indicating how far each is from the mean, and is calculated by taking the difference between each value and the mean of the data set, squaring each difference (to make it positive) and then dividing the sum of the squares by the number of values in the set minus 1 (degrees of freedom). The square root of the variance is called the standard deviation^{39,40}, which has the practical advantage of having the same unit of measurement as the data used for its calculation. Several type deviations cannot be added, subtracted, divided or multiplied together, so the variance, σ^2 is needed when combining different components of measurement uncertainty;

5b. if the laboratory has evidence that the measurand in human samples and the measurand in the control material behave very similarly, the standard deviation calculated for the quality control values shall be taken as the uncertainty (u) of the results produced for human samples

5c. if the measurement uncertainty is consistently proportional to the result,

39 SIPMeL Commissione Qualità. L5Q15 Raccomandazioni per il glossario nelle nuove norme ISO per i laboratori medici su taratura, "etichette" e controllo di qualità (ISO 17511, ISO 18113 e ISO 15198). [Internet] <https://www.sipmel.it/it/risorse/gruppi/documenti/documento/117089> [citato 20 gennaio 2021].

40 Pradella M. Parole in lingua italiana per norme ISO: le raccomandazioni SIPMeL. La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2021 Marzo;17(1):42-6



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura
agosto 2021

risultato, oppure se il risultato è ottenuto come calcolo da altri risultati, lo scarto tipo viene sostituito dal coefficiente di variazione ($CV\%$),

5d. per rappresentare l'intervallo che contiene circa il 95% dei risultati della misura, l'incertezza di misura (u) viene moltiplicata per un fattore di copertura (k) pari a 2, ottenendo così l'incertezza estesa (U);

5e. l'incertezza di un risultato ottenuto da misure combinate (per esempio, il gap anionico o l'osmolalità calcolata) si ottiene come radice quadrata della somma delle singole varianze; se le misure combinate vengono moltiplicate o divise tra loro (per esempio, clearance della creatinina, stima del filtrato glomerulare, $eGFR$), vengono usati le singole incertezze relative (u_{rel}), ovvero i coefficienti di variazione ($CV\%$); in alternativa, viene usato direttamente il calcolo ripetuto dalle singole misure (per esempio, creando per $eGFR$ un soggetto "fantoccio" con etnia, sesso ed età fittizie);

5f. se cambiano le condizioni della misura (per esempio, nuovo lotto di reagente, nuovo lotto di materiale di controllo, strumento diverso per la stessa misura), l'incertezza comune (*pooled*) viene stimata dalla media delle varianze ottenute in ciascun lotto, ponderate per il numero delle misure nel caso siano diverse;

5g. l'imprecisione dei risultati qualitativi nominali segue una distribuzione binomiale con parametri numero di replicati e probabilità di positivi^{41, 42}; la probabilità di positivi è lo stimatore della

or if the result is obtained as a calculation from other results, the standard deviation is replaced by the coefficient of variation ($CV\%$),

5d. in order to represent the range containing approximately 95 % of the measurement results, the measurement uncertainty (u) is multiplied by a coverage factor (k) of 2, resulting in the expanded uncertainty (U);

5e. the uncertainty of a result from combined measurements (e.g. anion gap or calculated osmolality) is obtained as the square root of the sum of the individual variances; if the combined measures are multiplied or divided by each other (e.g. creatinine clearance, estimated glomerular filtrate, $eGFR$), the individual relative uncertainties (u_{rel}), i.e. coefficients of variation ($CV\%$), are used; alternatively, the repeated calculation from the individual measures is used directly (e.g. by creating a "dummy" subject with fictitious ethnicity, sex and age for $eGFR$);

5f. if the measurement conditions change (e.g. new batch of reagent, new batch of control material, different instrument for the same measurement), the pooled uncertainty is estimated from the average of the variances obtained in each batch, weighted by the number of measurements in case they are different;

5g. the imprecision of nominal qualitative results follows a binomial distribution with parameters number of replicates and probability of positives^{41,42}; the probability of positives is the estimator of the precision component of the uncertainty,^{NOTE G} examples of this type of examination

41 Wilrich P. The determination of precision of qualitative measurement methods by interlaboratory experiments. Accred Qual Assur (2010) 15:439–444

42 ISO 5725-2:2019. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

componente precisione dell'incertezza;^{NOTA G} esempi di questa tipologia di esami si trovano nel documento Accredia DT-07;^{43, NOTA H}

can be found in the document Accredia DT-07;⁴³

⁴³ Accredia. DT-07-DL/DS rev.00 – Guida all'esecuzione di prove con risultati qualitativi. 2013



2.6 Raccomandazioni SIPMeL n.6 per esami con amplificazione di acidi nucleici

6. in conformità a ISO 17822⁴⁴, il laboratorio garantisce la qualità degli esami con amplificazione di acidi nucleici⁴⁵ secondo i seguenti principi:

6a. i metodi con etichetta IVD (marchio CE⁴⁶) sono sottoposti a verifica; con nuovi lotti di reagenti critici servono uno studio su piccola scala (ad es. un confronto tra i nuovi e vecchi lotti di materiale) e uno studio di precisione;^{47, 48}

6b. i metodi con etichetta IVD modificati, quelli sviluppati in laboratorio, quelli commercializzati per il solo uso di ricerca sono sottoposti a validazione e verifica;⁴⁹ uno studio sostenibile per il laboratorio medico consiste in esperimenti di convalida completa utilizzando bersagli rappresentativi ed esperimenti più limitati per valutare organismi bersaglio aggiuntivi;⁵⁰

6c. la verifica si applica alle caratteristiche prestazionali: esattezza, intervallo di risposta, intervallo di riferimento (se applicabile), precisione (ovvero incertezza);^{51, 52, 53}

SIPMeL Recommendations no.6 for nucleic acid amplification tests

6. In accordance with ISO 17822⁴⁴, the laboratory ensures the quality of nucleic acid amplification tests⁴⁵ according to the following principles:

6a. IVD-labelled methods (CE mark⁴⁶) are audited; with new batches of critical reagents a small-scale study (e.g. comparison of new and old batches of material) and a precision study are required;^{47,48}

6b. modified IVD-labelled methods, those developed in the laboratory, those marketed for research use only are subject to validation and verification;⁴⁹ a sustainable study for the medical laboratory consists of full validation experiments using representative targets and more limited experiments to evaluate additional target organisms.⁵⁰

6c. verification applies to performance characteristics: accuracy, response range, reference range (if applicable), precision (i.e.

44 ISO 17822:2020. In vitro diagnostic test systems — Nucleic acid amplification-based examination procedures for detection and identification of microbial pathogens — Laboratory quality practice guide.

45 Pradella M. ISO 17822, la qualità per esami con amplificazione di acidi nucleici La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2020 Marzo;16(1):4-6.

46 Pradella M. Nuova legge europea per la diagnostica e standard ISO nella fase post-vendita dei dispositivi. La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2020 Dicembre;16(4):309-17

47 CLSI MM22-A:2014 Microarrays for Diagnosis and Monitoring of Infectious Diseases, 1st Edition

48 CLSI MM17-ED2:2018

49 ISO 20397-2:2021 Biotechnology — Massively parallel sequencing — Part 2: Quality evaluation of sequencing data

50 CLSI MM22-A:2014



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

6d. la validazione si applica anche a limite di rilevazione, interferenze, robustezza, sensibilità e specificità cliniche; nel caso dei sistemi per sequenziamento massivo parallelo o di sequenziamento ad alta capacità (next generation sequencing, NGS) il procedimento si applica alla convalida generale della piattaforma, il lavoro non deve essere ripetuto per i singoli metodi o prove, gli indicatori di qualità utilizzabili sono diversi e specifici per piattaforma;^{54, 55, 56}

6e. lo studio di precisione comprende ripetibilità, precisione intermedia e riproducibilità, tutte basate su repliche della misura;^{57, 58, 59, 60} **i campioni per lo studio sono una miscela di controlli preparati (incluso il livello basso) e campioni di pazienti, intervallati da controlli in bianco;**⁶¹

6f. per i risultati quantitativi, e per le fasi quantitative di metodi con risultati

uncertainty);^{51,52,53}

6d. validation also applies to limit of detection, interference, robustness, clinical sensitivity and specificity; in the case of massively parallel sequencing or next generation sequencing (NGS) systems the process applies to overall platform validation, the work does not have to be repeated for individual methods or tests, the quality indicators that can be used are different and platform specific;^{54,55,56}

6e. the precision study includes repeatability, intermediate precision and reproducibility, all based on measurement replication,^{57,58,59,60} the samples for the study are a mixture of prepared controls (including

51 CLSI MM03-ED3:2015 Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases, 3rd Edition

52 CLSI MM22-A:2014 Microarrays for Diagnosis and Monitoring of Infectious Diseases, 1st Edition

53 CLSI MM09-A2:2014 Nucleic Acid Sequencing Methods in Diagnostic Laboratory Medicine, 2nd Edition

54 Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. Eur J Hum Genet. Nature Publishing Group; 2016;24: 2–5

55 Endrullat C, Glökler J, Franke P, Frohme M. Standardization and quality management in next-generation sequencing. Appl Transl Genom. 2016 Jul 1;10:2-9. doi: 10.1016/j.atg.2016.06.001. PMID: 27668169; PMCID: PMC5025460.

56 ISO 20397-2:2021, Biotechnology — General requirements for massively parallel sequencing — Part 2: Methods to evaluate the quality of sequencing data

57 ISO 17822-2:2020 punto 7.3.2

58 CLSI MM17-ED2:2018 Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays, 2nd Edition

59 U.S. Food and Drug Administration (FDA). Considerations for Design, Development, and Analytical Validation of Next Generation Sequencing-Based In Vitro Diagnostics Intended to Aim in the Diagnosis of Suspected Germline Diseases. Updated 13 April 2018. <https://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM509838.pdf> (2018).

60 Pettersson L, Vezzi F, Vonlanthen S, Alwegren K, Hedrum A, Hauzenberger D, Development and performance of a next generation sequencing (NGS) assay for monitoring of mixed chimerism, Clinica Chimica Acta, Volume 512, 2021, Pages 40-48.

61 Sharp S, Clark RB. Cumitech 31A: Verification and Validation Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory. Washington, DC: ASM Press; 2009



finali qualitativi nominali⁶², la precisione viene studiata almeno a tre livelli (alto, basso e livello decisionale clinico)⁶³; il numero dei replicati è stabilito come indicato da ISO 5725-1;⁶⁴

6g. la precisione per i risultati qualitativi nominali, ottenuti da un processo senza fasi di misura quantitativa (raccomandazione 1c), viene studiata vicino al limite di rilevabilità o al C_{50}^{NOTA1} , al 20% sopra il limite ed al 20% sotto, con 40 replicati per una valutazione, almeno 10 per una semplice verifica di un metodo già approvato come IVD⁶⁵; con uno schema di replicati in doppio per 15 giorni (schema 2 x 15, tabella C3 in CLSI MM17⁶⁶) oppure da 3 a 5 campioni esaminati in triplicato in 5 giorni (schema 3 x 5, tabella E2 in CLSI MM17⁶⁷), si ottengono sia la riproducibilità (precisione tra le serie) che la ripetibilità (precisione nella serie), entrambe espresse come frequenza % dei positivi; il materiale per lo studio di precisione viene ottenuto per diluizione da un campione positivo, per raggiungere il punto C_{50} ; quindi vengono preparati i punti sopra e sotto ^{68, 69, 70}; il risultato dello studio è

low level) and patient samples, interspersed with blank controls;⁶¹

6f. for quantitative results, and for quantitative steps of methods with nominal qualitative end results⁶², precision is studied at least at three levels (high, low and clinical decision level)⁶³; the number of replicates is established as indicated by ISO 5725-1;⁶⁴

6g. Precision for nominal qualitative results, obtained from a process without quantitative measurement steps (recommendation 1c), is studied close to the detection limit or C_{50}^{NOTEH} , 20% above the limit and 20% below, with 40 replicates for evaluation, at least 10 for simple verification of a method already approved as IVD⁶⁵; with a pattern of replicates tested in duplicate over 15 days (2 x 15 pattern, table C3 in CLSI MM17⁶⁶) or 3 to 5 samples tested in triplicate over 5 days (3 x 5 pattern, table E2 in CLSI MM17⁶⁷), both reproducibility (precision between runs) and repeatability (precision in the run), both

62 Jennings L.J., Arcila M.E., Corless C., Kamel-Reid S., Lubin I.M., Pfeifer J., Temple-Smolkin R.L., Voelkerding K.V., Nikiforova M.N. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels. J. Mol. Diagn. 2017;19:341–365. doi: 10.1016/j.jmol.2017.01.011.

63 ISO/WD TS 5798. Quality Practice for detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods

64 ISO 20395:2019 Biotechnology — Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences — qPCR and dPCR

65 CLSI MM22 Tabella 3.

66 CLSI MM17-ED2:2018 Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays, 2nd Edition. Tabella C3.

67 CLSI MM17-ED2:2018 Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays, 2nd Edition. Tabella C3.

68 CLSI EP12-A2 . User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline—Second Edition.. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania USA, 2007

69 Miler M. Verification of qualitative methods. e 15 EFLM Continuing Postgraduate Course in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: How To Assess the Quality of your Method? <https://www.eflm.eu/files/efcc/Zagreb-Miler.pdf>

70 Nordin G. Performance criteria for qualitative test procedures. 2014 - 1st EFLM Strategic Conference "Defining analytical performance goals 15 years after the Stockholm Conference on Quality Specifications in Laboratory Medicine" <https://www.eflm.eu/files/efcc/18%20-%20Nordin.pdf>



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura
agosto 2021

espresso come percentuale di positivi e confrontato con il valore atteso per C_5 e $C_{95}^{NOTA J}$ (Raccomandazione 3c);

6h. il criterio interpretativo per la prova di ripetibilità in audit di parte terza di risultati qualitativi nominali è semplicemente il seguente: due risultati uguali per un campione debolmente positivo, vicino al limte di rilevabilità (al livello circa C_{95} o in mancanza $C_{50}+20\%$) sono prova positiva, due risultati diversi sono prova negativa;

expressed as a % frequency of positives, are achieved; precision study material is obtained by dilution from a positive sample to reach point C_{50} ; then points above and below 68,59,70 are prepared; the result of the study is expressed as a percentage of positives and compared with the expected value for C_5 and $C_{95}^{NOTE 1}$ (Recommendation 3c);

6h. the interpretative criterion for repeatability testing in third party audits of nominal qualitative results is simply as follows: two equal results for a weakly positive sample, close to the detection limit (at the level around C_{95} or failing that $C_{50}+20\%$) is positive evidence, two different results are negative evidence;



3. Conclusioni

A prescindere dalle modalità di calcolo e di espressione, è intuitivo che la conoscenza della variabilità o dell'incertezza dell'esame eseguito nel laboratorio medico è necessaria al laboratorio per essere consapevole dell'affidabilità dei propri risultati. In qualche occasione, l'informazione può essere utilmente condivisa con utenti o terze parti, ad esempio nel processo di accreditamento.

Una vasta letteratura di contributi scientifici, raccomandazioni e linee guida consente ormai di ritenere chiare le modalità da adottare per la stima dell'incertezza di misura nei laboratori medici.

Due sono gli elementi fondamentali: la ripetizione ed il livello.

Qualunque sia il metodo applicato per l'esame di laboratorio, la componente precisione dell'incertezza scaturisce da ripetizioni dell'esame sullo stesso materiale.

L'incertezza dipende altresì fortemente dal livello della proprietà misurata nel materiale, sia per i risultati quantitativi numerici che ancor più per quelli qualitativi nominali.

Il controllo di qualità interno (IQC) è strettamente connesso all'incertezza ed alla sua componente di precisione: consente sia di individuare la dispersione dei risultati quantitativi numerici, che la frequenza dei positivi per i risultati qualitativi nominali.

La componente della precisione viene espressa come scarto tipo o

3. Conclusions

Regardless of how it is calculated and expressed, it is intuitive that knowledge of the variability or uncertainty of the examination performed in the medical laboratory is necessary for the laboratory to be aware of the reliability of its results. On some occasions, the information can be usefully shared with users or third parties, e.g. in the accreditation process.

An extensive literature of scientific contributions, recommendations and guidelines now makes it clear how measurement uncertainty should be estimated in medical laboratories.

There are two key elements: repetition and level.

Whatever method is applied for the laboratory examination, the accuracy component of uncertainty arises from repetitions of the examination on the same material.

Uncertainty is also strongly dependent on the level of the measured property in the material, both for numerical quantitative results and even more so for nominal qualitative results.

Internal quality control (IQC) is closely linked to uncertainty and its accuracy component: it allows both the dispersion of numerical quantitative results and the frequency of positives for nominal qualitative results to be identified.

The precision component is expressed as a standard deviation or



Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Componente della World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine

www.sipmel.it

Commissione Nazionale Qualità ed Accreditamento

Gruppo di Studio Informatica

Coordinatore: Marco Pradella

Certificazione ISO



Versione 0.3 - bozza

documento Q16 incertezza di misura

agosto 2021

coefficiente di variazione (CV%) per risultati quantitativi numerici e probabilità del positivo (POD%) per i risultati qualitativi nominali.

La componente della precisione in condizione di ripetibilità è una evidenza di conformità rilevata nelle verifiche degli audit.

coefficient of variation (CV%) for numerical quantitative results and probability of positive (POD%) for nominal qualitative results.

The accuracy component under repeatability conditions is evidence of compliance found in audits.

NOTA A: Per gli esami di microbiologia, l'incertezza di misura si applicherà ai risultati misurati, in particolare le dimensioni delle zone o le MIC, la microscopia dei fluidi, compresi i fluidi cerebrospinali (CSF) e le urine, la conta quantitativa e qualitativa ordinale (c.d. semiquantitativa) degli organismi, per esempio le colture nei fluidi della dialisi peritoneale ambulatoriale continua (CAPD) e le urine. UK SMI Q1 Evaluations, validations and verifications of diagnostic tests. 2017.

NOTE A: For microbiology tests, measurement uncertainty will apply to measured results, in particular zone sizes or MICs, microscopy of fluids including cerebrospinal fluids (CSF) and urine, quantitative and qualitative ordinal (s.c. semi-quantitative) counts of organisms, e.g. cultures in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) fluids and urine. UK SMI Q1 Evaluations, validations and verifications of diagnostic tests. 2017.

NOTA B Anche in ambito di laboratori antidoping, la stima della riproducibilità intra-laboratorio o della precisione intermedia dei risultati è solitamente ottenuta dal CQ intra-laboratorio e dai dati di validazione del metodo. WADA Technical Document – TD2019DL v. 2.0. Decision limits for the confirmatory quantification of threshold substances.

NOTE B: Even in the context of anti-doping laboratories, the estimation of intra-laboratory reproducibility or intermediate precision of results is usually obtained from intra-laboratory QC and method validation data. WADA Technical Document - TD2019DL v. 2.0. Decision limits for the confirmatory quantification of threshold substances.

NOTA C secondo ISO 19011:2018, alla voce 3.8 "evidenza oggettiva", dati che supportano l'esistenza o la veridicità di qualcosa, si specifica che può essere ottenuta attraverso l'osservazione, la misurazione, la prova o con altri mezzi. Misurazione e prova sono le categorie in cui rientra la "prova in doppio". ISO 19011:2018. Guidelines for auditing management systems. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2018.

NOTE C: According to ISO 19011:2018, under item 3.8 "objective evidence", data that supports the existence or veracity of something, it is specified that it can be obtained through observation, measurement, testing or by other means. Measurement and test are the categories into which 'double test' falls. ISO 19011:2018. Guidelines for auditing management systems. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2018.

NOTA D NOTA: la verifica della ripetibilità nel tempo non va confusa con la verifica delle caratteristiche prestazionali nella convalida o validazione dei metodi. La seconda ha come riferimento gli obiettivi analitici, la prima invece la caratteristica del metodo medesimo in un tempo precedente. La verifica deve comunque utilizzare criteri oggettivi, scientificamente fondati, non soggettivo. Il risultato della prova in doppio, per esempio, va confrontato con il limite di ripetibilità, non con coefficienti di variazione o scarti scelti in modo arbitrario.

NOTE D: The verification of repeatability over time should not be confused with the verification of performance characteristics in the validation or validation of methods. The latter has as reference the analytical objectives, the former instead the characteristic of the method itself in a previous time. Verification must in any case use objective, scientifically based criteria, not subjective ones. The result of the duplicate test, for example, must be compared with the repeatability limit, not with arbitrarily chosen coefficients of variation or deviations.

NOTA E NOTA: Il modello qualitativo non è necessariamente un modello separato e distinto dal modello quantitativo, ma potrebbe essere considerato un caso speciale o un sottoinsieme del modello quantitativo di base (vedi ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions).

NOTE: The qualitative model is not necessarily a separate and distinct model from the quantitative model, but could be considered a special case or a subset of the basic quantitative model (see ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions).

NOTA F secondo ISO 19011:2018, alla voce 3.8 "evidenza oggettiva", dati che supportano l'esistenza o la veridicità di qualcosa, si specifica che può essere ottenuta attraverso l'osservazione, la misurazione, la prova o con altri mezzi. Misurazione e prova sono le categorie in cui rientra la "prova in doppio". ISO 19011:2018. Guidelines for auditing management systems. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2018.

NOTE F: According to ISO 19011:2018, under item 3.8 "objective evidence", data that supports the existence or veracity of something, it is specified that it can be obtained through observation, measurement, testing or by other means. Measurement and proof are the categories into which 'double proof' falls. ISO 19011:2018. Guidelines for auditing management systems. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2018.

NOTA G Non di discutono in dettaglio in questo documento gli intervalli di confidenza per le stime della precisione, né per i risultati qualitativi né per quelli quantitativi.

NOTE: Confidence intervals for accuracy estimates are not discussed in detail in this document, neither for qualitative nor for quantitative results.

NOTA H: i risultati di tipo qualitativo ordinale (ad esempio, "+", "++", "+++") sono un caso particolare delle regole generali per i risultati qualitativi. Ogni risultato è indipendente dagli altri. Dal punto di vista pratico, il laboratorio seleziona un materiale vicino al limite decisionale (un positivo debole, ad esempio "+") ed esprime la precisione come probabilità dei positivi (POD%).

NOTE H: Ordinal qualitative results (e.g. '+', '++', '+++') are a special case of the general rules for qualitative results. Each result is independent of the others. From a practical point of view, the laboratory selects a material close to the decision limit (a weak positive, e.g. "+") and expresses the precision as the probability of positives (POD%).

NOTA I: per un risultato qualitativo, esiste una soglia sopra la quale il risultato è riportato come positivo e sotto la quale il risultato è riportato come negativo (cutoff); la concentrazione soglia o C_{50} è quella alla quale il 50% di una grande serie di risultati di test è positivo.

NOTE I: For a qualitative result, there is a threshold above which the result is reported as positive and below which the result is reported as negative (cutoff); the cutoff concentration or C_{50} is that at which 50% of a large set of test results are positive.

NOTA J: Le soglie C_5 e C_{95} corrispondono ai livelli con rispettivamente il 5% ed il 95% di positivi. La significatività del confronto dipende dal numero di prove eseguite (EP12-A2 Tabella A1 per i dati in funzione del numero di prove). Nel caso standard con 40 replicati, 40 risultati positivi hanno confidenza al 93%, mentre per 38 risultati positivi la confidenza scende al 50%. La proposta di usare il coefficiente kappa di Cohen (analogo al coefficiente di correlazione per i dati quantitativi) (Topic et al.: How to assess the quality of your analytical method? Clin Chem Lab Med 2015; 53(11): 1707–1718) non fornisce vantaggi aggiuntivi e non appare adatta al laboratorio medico.

NOTE J: The thresholds C_5 and C_{95} correspond to the levels with 5% and 95% positives, respectively. The significance of the comparison depends on the number of trials performed (EP12-A2 Table A1 for data according to number of tests). In the standard case with 40 replicates, 40 positive results have 93% confidence, while for 38 positive results the confidence drops to 50%. The proposal to use Cohen's kappa coefficient (analogous to the correlation coefficient for quantitative data) (Topic et al.: How to assess the quality of your analytical method? Clin Chem Lab Med 2015; 53(11): 1707-1718) does not provide any additional benefits and does not appear suitable for the medical laboratory.